

# 中下部胆管癌切除例における予後因子の検討 -病理組織学的因子, 核DNA量, モノクローナル抗体MIB-1染色陽性率, p53蛋白発現の評価-

著者	山田 康雄
号	2884
発行年	1996
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/21369">http://hdl.handle.net/10097/21369</a>

氏 名（本籍）                      やま                      た                      やす                      お  
山                      田                      康                      雄

学 位 の 種 類                      博                      士                      （ 医                      学 ）

学 位 記 番 号                      医                      第                      2 8 8 4                      号

学位授与年月日                      平 成                      8                      年                      3                      月                      8                      日

学位授与の条件                      学位規則第 4 条第 2 項該当

最   終   学   歴                      昭 和                      62                      年                      3                      月                      25                      日  
東北大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目                      中下部胆管癌切除例における予後因子の検討  
－病理組織学的因子，核 DNA 量，モノクローナ  
ル抗体 MIB-1 染色陽性率，p53 蛋白発現の評価－

（主   査）

論 文 審 査 委 員                      教授 松   野   正   紀                      教授 高   橋                      徹

教授 堀   井                      明

# 論文内容要旨

## 【目 的】

Ki-67 は late G1, S, G2, M 期の増殖期細胞に出現する核抗原である。近年開発されたモノクローナル抗体 MIB-1 は通常のホルマリン固定パラフィン包埋標本においても Ki-67 抗原を認識し、細胞増殖活性の解析を行う上で有用である。また、p53 蛋白は染色体 17p に位置する癌抑制遺伝子 p53 の異常に際して過剰発現される遺伝子産物であり、p53 蛋白を免疫組織学的に検出することにより癌抑制遺伝子 p53 の変異を推定することができる。本研究では中下部胆管癌切除例において、MIB-1 により表現される腫瘍増殖活性、p53 蛋白発現に加え核 DNA 量の評価を行い、これらが病理組織学的因子から独立した予後規定因子たり得るかどうかについて、retrospective に検討した。

## 【対 象】

対象は中下部胆管癌切除例 28 例とした。年齢は 40 歳から 80 歳まで、平均 67.6 歳で、男性 18 例、女性 10 例であった。腫瘍占居部位は下部胆管癌 (Bi) 20 例、中部胆管癌 (Bm) 8 例であった。手術術式は、Bi 全例に膵頭十二指腸切除術を施行し、Bm 8 例中 6 例に胆管切除術を、2 例に膵頭十二指腸切除術を施行した。28 例中、3 年以上生存例 11 例、3 年以内死亡例 13 例であり、3 年以内生存中が 4 例であった。

## 【方 法】

1) 核 DNA 量測定 : 28 例のうち 20 例について、4', 6-diamidino-2 phenylindole (DAPI) を用いた顕微分光測光法により、原発巣パラフィン・ブロックから単離した癌細胞 200 個の核 DNA 量を測定した。

2) 免疫組織学的方法 : 28 例全例で、原発巣パラフィン・ブロックを用い、マイクロ・ウェーブ処理を経て Avidin-Biotin complex (ABC) 法により免疫組織染色を行った。一次抗体としてマウスモノクローナル抗体 MIB-1/KI-67 (Immunotech 社)、抗 p53 蛋白マウスモノクローナル抗体 (DACO 社、DO-7) を用いた。MIB-1 については各症例最低 1000 個の癌細胞を count し、MIB-1 陽性細胞の百分率をもって MIB-1 score とした。

## 【結 果 と 考 察】

I. 臨床病理学的所見 : stage, 病理組織学的因子と Kaplan-Meier 法による累積生存率との関

係では、stage I～ⅢとⅣの間で、また下部胆管癌において膵臓浸潤（panc）（－）群と（＋）群との間で生存率に有意差がみられ（ $p<0.05$ ）、有意差はないもののリンパ管侵襲（ly）、リンパ節転移（n）でも差がみられた（ $p<0.1$ ）。組織型、静脈侵襲（v）、十二指腸浸潤（d）、神経周囲浸潤（pn）と予後との間に有意な相関はみられなかった。

Ⅱ．核 DNA 量解析：核 DNA 量の測定を行った 20 例の ploidy pattern をみると、diploid は 2 例にみられたのみで他はすべて aneuploid であった。各症例 200 個の癌細胞の平均核 DNA 量を 3 年以上生存例 10 例と 3 年以内死亡例 8 例との間で比較したが両群間に有意差はみられなかった。平均核 DNA 量が 5c 以上の群（ $N=5$ ）と 5c 以下の群（ $N=15$ ）に分けて予後と比較すると、5c 以上の群で有意に予後不良であった（ $p<0.05$ ）。

Ⅲ．MIB-1 score：3 生例 11 例の MIB-1 score は平均  $13.3\pm 11.0\%$ 、3 年以内死亡例 13 例は  $20.7\pm 9.3\%$  であり、3 年以内死亡群で高い傾向がみられた（ $p<0.1$ ）。10%以下（ $N=9$ ）と 10%以上（ $N=19$ ）の群に分けて累積生存率を比較すると 10%以下の群で有意に予後良好であった（ $p<0.01$ ）。

Ⅳ．p53：p53 蛋白陽性症例は 9 例（32%）であった。p53（＋）群と p53（－）群との間で累積生存率を比較したが有意差はみられなかった。

Ⅴ．各因子間の相関：stage、病理組織学的因子と平均核 DNA 量、MIB-1 score、p53 蛋白発現との間に有意な相関はみられなかった。MIB-1 score と平均核 DNA 量との間には正比例の相関がみられたが、p53 蛋白発現と平均核 DNA 量、MIB-1 score との間に相関はみられなかった。

以上の結果より、中下部胆管癌においては、stage、膵臓浸潤などの形態学的な予後規定因子と独立して、MIB-1 score により表現される腫瘍細胞増殖活性および核 DNA 量が予後規定因子になり得ると思われたが、p53 は予後規定因子とはなり得ないものと思われた。

## 審 査 結 果 の 要 旨

中下部胆管癌の予後規定因子に関する研究は、従来、専ら病理組織学的因子などの形態学的側面からアプローチされており、生物学的悪性度に関する検討は極めて少ない。本研究は、中下部胆管癌の臨床的予後に関与する諸因子の意義を解明するために、切除症例 28 例の手術材料を用いて、原発腫瘍の組織学的因子に加えて、顕微分光測光法による核 DNA 量の定量と ploidy パターンを、また、免疫組織学的手法により増殖能のマーカーとしての MIB-1/Ki-67 陽性率ならびに癌抑制遺伝子異常としての p53 蛋白発現を調べ、術後生存期間との関連を統計的に分析したものである。

まず、組織学的因子の検討では stage、臍臓浸潤の有無により生存期間に有意差がみられた。次に核 DNA 量の分析では平均核 DNA 量が 5c を越える症例で生存期間が有意に短縮しており、また MIB-1/Ki-67 の分析では MIB-1 陽性細胞の比率が 10% に満たない症例で生存期間が有意に延長していることが明らかにされた。さらに核 DNA 量、MIB-1 陽性率の値が、組織学的諸因子に左右されないことが示唆された。一方、p53 蛋白発現の有無が術後の生存期間に関連する証拠は得られなかった。

以上のように、本研究は、中下部胆管癌において従来殆ど検討のなされていなかった増殖活性などの生物学的悪性度指標の臨床的意義を明らかにしたものであり、複雑な因子が絡み合い解析困難な臨床例の取り扱いで解答を出し得たことは、博士号（医学）を授与するに十分、値すると考えられる。